

④ 公開特許公報 (A) 昭60-120823

④ Int. Cl.<sup>4</sup>

識別記号

庁内整理番号

④ 公開 昭和60年(1985)6月28日

A 61 K 39/395

7043-4C

審査請求 未請求 発明の数 1 (全4頁)

④ 発明の名称 I g G単量体

④ 特 願 昭58-228638

④ 出 願 昭58(1983)12月2日

④ 発 明 者 上 村 八 尋

枚方市三矢町5-18 メゾン枚方215

④ 発 明 者 西 田 正 行

大阪府三島郡島本町青葉3丁目2-6-304

④ 発 明 者 船 越 哲

アメリカ合衆国、カリフォルニア州、ロサンゼルス、バサデナ、サンバスカストリート3361

④ 発 明 者 須 山 忠 和

京都府綴喜郡田辺町松井ヶ丘4丁目3番7号

④ 出 願 人 株式会社ミドリ十字

大阪市東区今橋1丁目15番地の1

④ 代 理 人 弁理士 高 島 一

明 細 書

1. 発明の名称

I g G単量体

2. 特許請求の範囲

(1) ヒト I g G の二量体および/または重合体を突発するヒト I g G の 0.2 ~ 2.0 w/v 溶液を pH 3.7 ~ 4.3 で 30 分 ~ 2.0 時間処理してヒト I g G 二量体および重合体を単量体へ解離させて得られた静脈投与可能な I g G。

(2) 無塩塩、塩類、蛋白質及び有機酸塩から選ばれる少なくとも一種の安定化剤 0.5 ~ 2.0 w/v 濃度の存在下に解離されたことを特徴とする特許請求の範囲第(1)項記載の静脈投与可能な I g G。

(3) 無塩塩が塩化ナトリウムまたは塩化カリウムであり、塩類がグルコース、フラクトース、サッカロース、ソルビトールまたはマンニトールであり、蛋白質がアルブミンまたはゼラチンであり、有機酸塩がシュウ酸塩、クエン酸塩であることを特徴とする特許請求の範囲第(1)項記載の方法。

3. 発明の詳細な説明

本発明は、静注可能な I g G に関する。さらに詳しくは、ヒト由来 I g G を、特定条件下で酸処理することによって I g G の二量体および/または重合体(以下、これらを I g G 凝集型と総称することもある)を除去して得られる静脈投与可能な I g G に関する。

冷スタノール分離法や硬安分画法等で製造された I g G 凝集型中には、T S I g G の他に 10 ~ 40 % の「I g G 凝集型が含まれている。このものは、抗原抗体反応作用や、ときには抗原性を示すために静脈内投与を行うことはできない。静注用 I g G を製するためにはこれら I g G 凝集型を除く必要がある。

I g G 凝集型を除去する方法に関して、酸処理法に関する先行技術としては以下のものがある。

「エロマ I g G の凝集型が、pH 4 範囲で解離することは Kochwa (1966) により観察されているが、エロマ I g G であるためか、又は pH 調整時の界面活性によるものか、中性に戻すと

再組合すると報告されている。

Bannson (1968) は、正常人の IgG を透析しながら pH 3.0 に調整すると、そこに含まれていた IgG 凝集型は解離するが、再度中性に戻すと不溶物が生じると報告している。このように酸処理で IgG 凝集型が解離することは知られていたが、特に単量体 IgG を効率よく得る方法についての詳細な報告はみられない。

他方ヒト IgG の酸溶性については、Jirgensson ら (1954) や Dela (1970) による紫外光性や円偏光二色性等の観察報告はあるが、その他の生物学的性状がどのように変化しているかに関しては報告されていない。一方、Stollar ら (1976) や Winkelhake ら (1980) はウサギ IgG を用いて酸溶性の研究を行い、IgG の重要な生物活性の一つである補体結合能が pH 3.5 より酸性側で減弱すること、抗原結合能は pH 2.5 ~ 3.0 でも安定であること等の成績を報告した。しかし、ウサギ IgG はヒト IgG と性状が異なるため、かかる知見がヒト IgG にも適用されると

は言い難い。

ヒト IgG 凝集型を、ヒト単量体を酸性させることなく、解離させる方法を見出すことができれば、従来の静注用グロブリンから単量体 rich の静注用グロブリンを効率よく製造することが可能となる。

従って、本発明の第一の目的は静注可能なヒト IgG を提供することである。

本発明の第二の目的は重合型 IgG の含量が可及的に少ないヒト IgG の製造方法を提供することである。

本発明の第三の目的は中性においても IgG 凝集型の生じることのないヒト IgG を提供することである。

本発明の第四の目的は安定な、静注可能ヒト IgG を提供することである。

本発明は、ヒト IgG 重合体を含有するヒト IgG の 0.2 ~ 2.0 w/v % 溶液を pH 3.7 ~ 4.3 で 30 分 ~ 20 時間処理してヒト IgG 単合体を単量体へ解離させて得られた静注投与可能な IgG

からなる。

原料となるヒト IgG は、IgG 凝集型を含むものが選ばれる。高度精製されたものであれば本発明処理後ただちに医薬品として調製できし、又、精製段階であれば既知の精製法と組合せられる。原料ヒト IgG の調製法としては、冷エクソールによるアルコール分離法が好適に利用される (ジャーナル オブ クリニカル インスティテュション, 23, 417, 1944年) (ジャーナル オブ アメリカン ケミカル ソサエティ, 68, 479, 1946年)。

酸処理は、原料を pH 3.7 ~ 4.3 に保ち行う。処理温度は 1 ~ 10℃、好ましくは 3 ~ 6℃であり、処理時間は 30 分 ~ 20 時間、好ましくは 60 分 ~ 4 時間、更に好ましくは 120 分 ~ 200 分である。ここで pH 調整に用いられる酸としては、上記 pH に調整可能なもので、かつ IgG に悪影響を及ぼさないものであればよく、たとえば塩酸などの無機酸、酢酸などの有機酸があげられる。酸処理時における IgG の濃度は、0.2 ~ 2.0 w/v

%、好ましくは 1.0 ~ 1.8 w/v % である。

この酸処理に際し、IgG の変性を防ぐためには無塩塩、糖類、蛋白質および有機酸塩から選ばれる化合物の単独、又は複数添加することが好ましい。無塩塩としては塩化ナトリウム、塩化カリウムなどのハロゲンとアルカリ金属との塩など、糖類としてはグルコース、フラクトース、ソルビトール、マンニト、サッカロースなど、蛋白質としてはアルブミン、ゼラチンなど、有機酸塩としてはシュウ酸塩、クエン酸塩 (特にこれら有機酸のナトリウム塩、カリウム塩などのアルカリ金属塩) 等が好適に例示される。その添加量は総量として 5 ~ 2.0 w/v % である。

当該安定化剤は、本発明 IgG 製造後もそのまま存在させておくことが IgG の保存安定性の観点から、好ましい。

かくして得られる酸処理 IgG は、医薬品製造の常套手段に準じて、除菌滅菌及び凍結乾燥処理などを行うことにより、凍結乾燥剤とすることも可能である。

本発明によって特定条件下に調整された静置液  
と可能1 g G、1 g G単量体が反応されておら  
ず、またこれを中性に戻しても1 g G凝集型が生  
ずることがないので、極めて有用なものである。

以下に本発明の実験例と実施例を示す。

#### 実験例1

5.7 mg/mlの1 g G凝集型を含む水溶液を各種  
pHに調整し、28で60分間incubate後、NaOH  
を加え中和した。更にリン酸緩衝液を等量加え、  
高速液体クロマトグラフィーによる残存1 g G凝  
集型の量およびアラスミン消化の程度を測定した。  
ここで用いた試料溶液中には7 Sが38%、二  
量体が61%および1%の重合体が含まれていた。  
このものを酸処理すると、pH3.8の処理におい  
て7 Sの量がピークになった。二量体1 g Gも処  
理pHの低下とともに減少したが、pH3.8以下の  
処理では重合体の量が増加した。

アラスミン消化の程度は、pH4付近の処理の場  
合に最もおそく、重合体の増加する処理領域およ  
び二量体が残存する処理領域では、アラスミンに

よる消化が早かった。

以上のことから、本発明の処理によって得られ  
たものは単量体の含量が多く、中和することによ  
って1 g G凝集型に戻ることがないことが明ら  
かである。

#### 実験例2

1.4 mg/mlの1 g G凝集型を含む水溶液(7 S  
が38%、二量体が61%、重合体が1%)に各  
種安定剤を添加し、pHを3.8に調整し、28で  
60分間incubate後、NaOHを加え中和した。その  
後、1 g Gの凝集状態を Hoesagglutination in  
hibition test 法により測定し、国際単位(IU  
/100 mg)で表し、安定剤の効果を見た。その結  
果は次の通りである。

安定剤: (w/v%)	凝集抗体価
ナシ	7
アルブミン : 15	10
同上 : 1	10
ゼラチン : 10	10
NaCl : 15	10

同上	: 1	9
グルコース	: 15	10
同上	: 1	9
サッカロース	: 10	10
マンニトール	: 15	10
同上	: 1	10
クエン酸Na	: 15	10
同上	: 1	9
NaCl	: 5	
+ フルクトース	: 5	10

#### 実施例1

アルコール分画法で得たヒト1 g Gの15 w/  
v%溶液を、0.1 M塩酸を用いてpH4.0に調整  
し、4で3時間静置した。その後、0.1 M塩酸  
セイソグを用いてpH6.5に修正した。その後、  
NaClを10 w/v%およびグルコースを5 w/v  
%濃度になるように加え、除菌濾過して静注用ダ  
ロブリンとした。

特許出願人 株式会社 ミドリ十字

代理人 弁護士 高島 一

手 続 形 式 正 規 (自発)

昭和59年3月8日

特許庁長官 殿

#### 1. 事件の表示

昭和58年特許第228638号

#### 2. 発明の名称

1 g G単量体

#### 3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

氏名(名称) 株式会社 ミドリ十字

#### 4. 代理人 の541

住 所 大阪市東区平野町4丁目53番地3

ニューライフ平野町406号

電話(06) 227-1156

高島国際特許事務所

氏 名 弁護士(8079) 高 島 一

#### 5. 補正命令の日付

#### 6. 補正の対象

明細書の「特許請求の範囲」の項  
および「発明の詳細な説明」の項

#### 7. 補正の内容

(1) 明細書の「特許請求の範囲」を別紙の通りに訂正する。

(2) 明細書第5頁、第19行の「酢酸」の次に「、クエン酸、シュウ酸」を加える。

(3) 同書第6頁、第6行の「金屈との塩」の次に「およびリン酸ナトリウム」を加える。

(4) 同書第8頁、第10行の「NaOHを加え」を削除する。

(5) 同書第8頁、第17行の「アルブミン：15」を「アルブミン：5」に訂正する。

(6) 同書第9頁、第5行の「マンニトール：15」を「マンニトール：5」に訂正する。

(7) 同書第9頁、第10行と第11行の間に  
「アルブミン：1  
+ グリシン：2.5      10」  
を加える。

(8) 同書第9頁、第13行の「0.1規定塩酸」を「0.1M酢酸緩衝液(pH3.5)」に訂正する。

(9) 同書第9頁、第14～15行の「0.1規定カゼインゾグ」を「1Mグリシン緩衝液(pH3.5)」に訂正する。

(10) 同書第9頁、第15行の「その後、」の次に「アルブミンを1w/v%」を加える。

(11) 同書第9頁、第16行の「10w/v%」を「3w/v%」に訂正する。

(別紙)

#### 特許請求の範囲

① ヒトIgGの二量体および/または重合体を失活するヒトIgGの0.2～2.0w/v%溶液をpH3.7～4.3で30分～20時間処理してヒトIgG二量体および重合体を単量体へ解離させて得られた静脈投与可能なIgG。

② 無機塩、糖類、蛋白質及び有機酸塩から選ばれる少なくとも一種の安定化剤0.5～2.0w/v%濃度の存在下に解離されたことを特徴とする特許請求の範囲第①項記載の静脈投与可能なIgG。

③ 無機塩が塩化ナトリウム、リン酸ナトリウムまたは塩化カリウムであり、糖類がグルコース、フラクトース、サッカロース、ソルビトールまたはマンニトールであり、蛋白質がアルブミンまたはゼラチンであり、有機酸塩がシュウ酸塩、クエン酸塩であることを特徴とする特許請求の範囲第②項記載の静脈投与可能なIgG。